

Screening for bærertilstand af Vancomycin Resistente Enterokokker (VRE)

Udarbejdet af: Barbara Holzknacht, Pia Littauer, Dennis Schrøder Hansen

Anbefalinger

Screening for Vancomycin Resistente Enterokokker (VRE) udføres på rektalpodning eller fæcesprøve. Hvis patienten har stomi, tages podning derfra.

For at opnå den højeste sensitivitet ved dyrkningsbaseret screening anbefales opformering i en selektiv VRE opformeringsbouillon overnat efterfulgt af udsåning på en selektiv kromogen plade eller anden selektiv vancomycin-holdig plade. Fund af VRE bekræftes med resistensbestemmelse for vancomycin og evt. teicoplanin og PCR for glycopeptidresistensgener (*van*).

Direkte påvisning af *vanA* og *vanB* gen ved genotypiske metoder på prøvemateriale (evt. efter opformering) bør altid konfirmeres med dyrkning.

Baggrund

Enterococcus faecium og *E. faecalis* er årsag til de fleste kliniske enterokok infektioner. Erhvervet resistens mod vancomycin og andre glycopeptidantibiotika ses i stigende grad i *E. faecium* og *E. faecalis*.

Vancomycin resistensgener (*van*) medfører ændringer i cellevægsforstadier som nedsætter bindingsevnen for glykopeptider. Der findes flere vancomycin resistensgener, men *vanA* og *vanB* er de hyppigst forekommende og begge er overførbare. *E. gallinarum* og *E. casseliflavus* derimod, er naturligt vancomycin resistente, og bærer det kromosomale *vanC* gen, men udgør sjældent et hygiejnemæssigt problem.

VanA VRE er vancomycin resistente (MIC >64 mg/L) og teicoplanin resistente (MIC >16 mg/L), mens vanB VRE er vancomycin resistente (variabel MIC, 4 - 32 mg/L), men teicoplanin følsomme (MIC ≤ 2 mg/L)¹.

Ved hospitalsudbrud er det vist, at fund af VRE i kliniske isolater kun identificerer en lille del af de VRE positive patienter og ved screening findes mindst 10 gange flere VRE positive patienter^{2,3}. Enterokokker er en del af tarmfloraen, og rektalpodning eller fæcesprøve anbefales derfor som screening for VRE bærertilstand. VRE bærertilstand er ofte langvarige (flere måneder)⁴. Der findes ikke behandling for VRE bærertilstand.

Prøvetagning og transport

Der tages rektal podning (kulpodepind i Stuarts transportmedium eller flocced swab i tilhørende, fx Amies, transport medium). Ved stomi podes fra stomi. Alternativt kan podedepind dyppes i fæcesprøve.

Dyrkningsbaseret screening

Opformering overnat (18 timer) i vækstmedie suppleret med vancomycin øger sensitiviteten af undersøgelsen⁵. Der anbefales vancomycin koncentration på 4 mg/L for at sikre vækst af *vanB* positive stammer med lavt vancomycin MIC. Samtidig tilsætning af aztreonam (fx 60 mg/L) hæmmer vækst af gram negative stave.

Flere studier af kromogene plader viser høj specificitet og sensitivitet⁵⁻⁷, men *vanB* positive stammer med lav vancomycin MIC kan blive hæmmet⁸. Som alternativ til kromogen plade kan anden vancomycin-holdig agarplade anvendes eller agarplade med vancomycin disk.

Vækst af VRE-lignende kolonier på kromogen eller anden selektiv plade bekræftes med speciesidentifikation, og vancomycin og eventuelt også teicoplanin resistensbestemmelse. Påvisning af resistensgener med PCR udføres på referencelaboratorium.

Metodebeskrivelse

1. Opformering i opformeringsbouillon:

Der kan fx bruges BHI med Vancomycin 4 mg/l og 60 mg/l Aztreonam. Har laboratoriet ikke et specifikt opformeringsmedie på lager kan fx en oksebouillon eller serumbouillon hvor man tilsætter vancomycin i form af disk til den ønskede koncentration anvendes.

Ved brug af kulpodepinde overføres denne i opformeringsbouillon og bliver medinkuberet. Flocked swab rystes nogle gange i opformeringsbouillon og sættes tilbage i transportmediet, alternativt tages 100µl af det flydende transportmedie. Inkuberes ved 35° C atm overnat (18 timer).

2. Udsåning fra opformeringsbouillon:

Udsåning på kromogen VRE plade eller anden vancomycin-holdig selektiv plade.

Efter grundig omrystning tages 100µl af opformeringsbouillon og sættes på den selektive og spredes med en steril podenål. Inkuberes ved 35° C atm og aflæses efter 1. og 2. døgn.

3. Aflæsning:

Ved vækst af VRE-lignende kolonier udføres species identifikation (fx med MALDI-TOF). Ved førstegangsfund af VRE hos patienten bekræftes resultatet med resistensbestemmelse for vancomycin og eventuelt teicoplanin og resistensen påvises med specifik PCR.

4. Til overvågning sendes det første isolat per patient fundet i en klinisk prøve til reference laboratoriet på Statens Serum Institut.

Genotypiske metoder

Genotypiske metoder bygger på direkte påvisning af resistensgenerne *vanA* og *vanB*. Der findes flere kommercielle assays eller in-house metoder. For forskellige assays og i forskellige settings er der beskrevet sensitivitet på 60-95%⁹⁻¹¹. Opformering overnat inden molekylærbiologisk analyse kan bruges til at øge sensitiviteten^{12, 13}. Da anaerobe bakterier i tarmfloraen kan bære *vanB* gen er den positive prædiktive værdi for *vanB* meget lav¹² og det anbefales generelt at positive PCR resultater bekræftes med dyrkning, ikke mindst i overvågningsøjemed.

Referencer

Reference List

1. Werner G, Coque TM, Hammerum AM et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill* 2008;13(47).
2. Calfee DP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci, and other Gram-positives in healthcare. *Curr Opin Infect Dis* 2012;25(4):385-394.
3. Mascini EM, Bonten MJ. Vancomycin-resistant enterococci: consequences for therapy and infection control. *Clin Microbiol Infect* 2005;11 Suppl 4:43-56.
4. Byers KE, Anglim AM, Anneski CJ, Farr BM. Duration of colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23(4):207-211.

5. Kuch A, Stefaniuk E, Ozorowski T, Hryniewicz W. New selective and differential chromogenic agar medium, chromID VRE, for screening vancomycin-resistant *Enterococcus* species. *J Microbiol Methods* 2009;77(1):124-126.
6. Peltroche-Llacsahuanga H, Top J, Weber-Heynemann J, Lutticken R, Haase G. Comparison of two chromogenic media for selective isolation of vancomycin-resistant enterococci from stool specimens. *J Clin Microbiol* 2009;47(12):4113-4116.
7. Delmas J, Robin F, Schweitzer C, Lesens O, Bonnet R. Evaluation of a new chromogenic medium, ChromID VRE, for detection of vancomycin-resistant *Enterococci* in stool samples and rectal swabs. *J Clin Microbiol* 2007;45(8):2731-2733.
8. Adler H, Oezcan S, Frei R. Vancomycin-resistant *Enterococci* of vanB genotype may pose problems for screening with highly selective media. *J Clin Microbiol* 2010;48(6):2323.
9. Mak A, Miller MA, Chong G, Monczak Y. Comparison of PCR and culture for screening of vancomycin-resistant *Enterococci*: highly disparate results for vanA and vanB. *J Clin Microbiol* 2009;47(12):4136-4137.
10. Marner ES, Wolk DM, Carr J et al. Diagnostic accuracy of the Cepheid GeneXpert vanA/vanB assay ver. 1.0 to detect the vanA and vanB vancomycin resistance genes in *Enterococcus* from perianal specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;69(4):382-389.
11. Zabicka D, Strzelecki J, Wozniak A et al. Efficiency of the Cepheid Xpert vanA/vanB assay for screening of colonization with vancomycin-resistant enterococci during hospital outbreak. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2012;101(3):671-675.
12. Werner G, Serr A, Schutt S et al. Comparison of direct cultivation on a selective solid medium, polymerase chain reaction from an enrichment broth, and the BD GeneOhm VanR Assay for identification of vancomycin-resistant enterococci in screening specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;70(4):512-521.
13. Fang H, Nord CE, Ullberg M. Screening for vancomycin-resistant enterococci: results of a survey in Stockholm. *APMIS* 2010;118(5):413-417.

Forfattere:

Barbara Holzknicht, KMA Herlev, barbara.juliane.holzknicht@regionh.dk

Pia Littauer, KMA Hvidovre, Pia.Jeanette.Littauer@regionh.dk

Dennis Schrøder Hansen, KMA Herlev, dennis.schroeder.hansen.01@regionh.dk

Version 2, oktober 2016